

Ingredientes Alternativos ao Gérmen de Trigo e Ágar em Dieta Artificial Visando o Desenvolvimento Larval de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

2 FOME ZERO
E AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
326**

**Ingredientes Alternativos ao Gérmen de
Trigo e Ágar em Dieta Artificial Visando o
Desenvolvimento Larval de *Anastrepha
fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**

*Dori Edson Nava
Sabrina Ongaratto
Beatriz Timm Rutz
Rafael da Silva Gonçalves
Sandro Daniel Nornberg*

***Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2019***

Embrapa Clima Temperado
BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações

Presidente
Luis Antônio Suíta de Castro

Vice-Presidente
Ana Cristina Richter Krolow

Secretário-Executivo
Bárbara Chevallier Cosenza

Membros
*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufê, Sonia Desimon*

Revisão de texto
Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica
Marilaine Schaun Pelufê

Editoração eletrônica
Fernando Jackson

Foto da capa
Paulo Lanzetta

1ª edição
Obra digitalizada (2019)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

1959 Ingredientes alternativos ao gérmen de trigo e ágar em
dieta artificial visando o desenvolvimento larval de
Anastrepha fraterculus (Diptera: Tephritidae) /
Dori Edson Nava... [et al.]. – Pelotas:
Embrapa Clima Temperado, 2019.
16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento /
Embrapa Clima Temperado, ISSN 1678-2518 ; 326)

1. *Anastrepha*. 2. Mosca-das-frutas.
I. Nava, Dori Edson. II. Série.

CDD 632.7

Sumário

| | |
|------------------------------|----|
| Introdução..... | 7 |
| Material e Métodos | 8 |
| Resultados e Discussão | 11 |
| Conclusões..... | 14 |
| Referências | 15 |

Ingredientes Alternativos ao Gérmen de Trigo e Ágar em Dieta Artificial Visando o Desenvolvimento Larval de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)

Dori Edson Nava¹

Sabrina Ongaratto²

Beatriz Timm Rutz³

Rafael da Silva Gonçalves⁴

Sandro Daniel Nornberg⁴

Resumo - As moscas-das-frutas produzidas em laboratório devem ser comparáveis às da natureza. Assim, deve-se dar atenção especial à qualidade nutricional das dietas utilizadas para o desenvolvimento larval. Para a criação de *A. fraterculus*, o maior custo de produção está relacionado à aquisição dos componentes proteicos (gérmen de trigo) e ao agente gelificante (ágar). Nesse sentido, este trabalho teve por objetivo identificar ingredientes que possam substituir o gérmen de trigo e o ágar, constituintes da dieta artificial utilizada para o desenvolvimento larval de *A. fraterculus*, sem perda de qualidade dos insetos produzidos. Como substituintes do gérmen de trigo, testou-se farinha de arroz integral, farinha de milho, mistura de farinha de trigo integral + farelo de soja, e gérmen de trigo cru, considerado como testemunha. Para avaliar produtos alternativos ao ágar, utilizou-se carragenina, goma xantana, sementes de chia e – considerado testemunha – ágar. Os resultados indicam que as dietas contendo farinha de arroz e de milho propiciam desenvolvimento de *A. fraterculus* próximo do obtido pela dieta com gérmen de trigo. Dentre os agentes gelificantes, observou-se que os três ingredientes alternativos testados podem substituir o ágar.

Termos para indexação: mosca-das-frutas, criação em dieta artificial, biologia.

¹ Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

² Engenheira-agrônoma, mestre em Fitossanidade, doutoranda em Agronomia, Unesp, SP.

³ Acadêmica de Biologia, Ufpel, estagiária da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, Partamon, Parque Tecnológico, Pelotas, RS.

Alternative Ingredients to Wheat Germ and Agar in Artificial Diet for Larval Development of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)

Abstract - The rearing of fruit flies in laboratory should be comparable to nature's conditions. For this reason, special attention should be given to the nutritional quality of diets used for larval development. For the rearing of *A. fraterculus*, the highest production cost is related to the protein components (wheat germ) and the gelling agent (agar). Thus, this work aimed to identify ingredients that can replace wheat germ and agar, constituting the artificial diet used for larval development of *A. fraterculus*, without quality loss of the insects. As substitutes for wheat germ we tested brown rice flour, maize flour, a mixture of whole wheat flour + soybean meal, and the raw wheat germ, considered as a control. In order to evaluate alternative products to replace the agar, we compared carrageenan, xanthan gum, chia seeds, and agar, considered as a control. The results indicate that the diets containing rice flour and corn flour allow a development of *A. fraterculus* close to the one obtained with the wheat germ diet. Among the gelling agents, it was observed that the three alternative ingredients tested can replace the agar.

Index terms: fruit flies, laboratory rearing, biology.

Introdução

As primeiras tentativas de criação da mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial foram realizadas por Finney (1956) e González (1971), mas foi somente com o trabalho de Salles (1992) que houve avanços consideráveis na criação, com a utilização de um substrato para a obtenção dos ovos e a definição de uma dieta artificial para o desenvolvimento larval. Embora essa técnica tenha propiciado a criação em média escala, o grande entrave à sua utilização para a produção massal estava relacionado à forma de obtenção dos ovos (Salles, 1992).

Estudos realizados posteriormente, com o uso de painéis para oviposição, aumentou a eficiência de obtenção de ovos e também propiciou aumento da viabilidade (Jaldo; Gramado; Willink, 2001). Nessa linha, também se sucedeu o trabalho de Vera et al. (2007). Braga Sobrinho et al. (2006) estudaram diferentes dietas para a criação massal de larvas e adultos de *A. fraterculus* nos Laboratórios de Entomologia, Agricultura e Biotecnologia, da Agência Internacional de Energia Atômica e da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação FAO/IAEA, em Seibersdorf, Áustria. A dieta mais adequada para adultos foi a combinação de proteína hidrolisada de milho, hidrolisado enzimático de fermento e açúcar cristalizado, na proporção de 3:1:3.

No Centro de Energia Atômica para a Agricultura (Cena) da Universidade de São Paulo (USP), foi estabelecida uma colônia de *A. fraterculus*, a partir de coletas em frutos de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess, Myrtaceae) (Walder et al., 2008), utilizando-se a dieta larval descrita por Salles (1992). Fazendo-se algumas modificações na metodologia de criação, foi possível obter ganhos na produção. Para evitar o ressecamento e perda de viabilidade dos ovos, foi colocada uma espuma externa, paralela ao tecido siliconado e presa a uma tampa de PVC transparente, a qual foi umedecida duas vezes ao dia. Durante três anos, houve aumento de 75% na viabilidade dos ovos (Walder et al., 2008).

Flores, Hernández e Toledo (2012) propuseram mudanças nas técnicas, visando dispor de melhorias em relação à tecnologia utilizada para a criação massal, tais como a seleção de painéis de oviposição (diferentes cores e texturas), além do aperfeiçoamento de dieta larval por 16 gerações.

Nunes et al. (2013) e Morelli (2013) também contribuíram para aperfeiçoar a dieta de Salles (1992), obtendo sucesso na redução da quantidade de gelificante que, junto com o gérmen de trigo (muitas vezes importado), constituem os grandes entraves à utilização da dieta proposta por Salles (1992). Embora essa dieta proporcione bom desenvolvimento larval, traz consigo altos custos de produção, o que muitas vezes pode inviabilizar a criação, dependendo da proporção com que se trabalha.

Há, ainda, estudos que definiram fontes de alimentação mais adequadas para moscas-das-frutas, através do balanço nutricional, especialmente de proteínas (Oviedo et al., 2011) e, de forma ainda mais específica, na influência de aminoácidos (Chang, 2004). Esse último autor afirma que o valor nutricional das proteínas é dependente do conteúdo dos aminoácidos essenciais.

Para a multiplicação de moscas-das-frutas e demais insetos em laboratório, é importante que se tenha uma dieta equilibrada nutricionalmente, tanto para o desenvolvimento de imaturos como para adultos. Do ponto de vista alimentar e nutricional, as substâncias normalmente requeridas pelo inseto podem ser divididas em primárias e secundárias. As primárias são aquelas que participam diretamente do metabolismo, influenciando diretamente a sobrevivência, o desenvolvimento, a reprodução e o comportamento (HSIAO, 1985). Essas substâncias são as proteínas, os carboidratos, os lipídeos, as vitaminas, os sais minerais, e – para muitos autores – a água.

Na fase imatura, a quantidade e a qualidade dos nutrientes consumidos influem em parâmetros como peso de pupa, e tempo de desenvolvimento larval, que tende a aumentar quando se usam ingredientes com baixo valor nutricional para a espécie em questão. Também afetam a sobrevivência, implicando o tamanho do adulto e a produção de óvulos nas fêmeas, em alguns casos. Na fase adulta, a nutrição é importante, principalmente na produção de ovos, habilidade de cópula, sobrevivência, capacidade de dispersão e renovação cuticular (Slansky Junior; Scriber, 1985; Cresoni-Pereira; Zucoloto, 2009).

Em relação à dieta larval, os diferentes ingredientes, bem como as proporções utilizadas, são decisivos no momento da sua elaboração (Flores; Hernández; Toledo, 2012). Além desses fatores, é importante levar em consideração a consistência e palatabilidade obtidos a partir da mistura dos componentes, o que tem impacto sobre a textura final de dieta e, finalmente, sobre o desenvolvimento larval (Singh, 1984), pois muitas vezes o ingrediente pode afetar a locomoção das larvas e dificultar a ingestão. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo identificar ingredientes que possam substituir a fonte proteica da dieta (gérmen de trigo) e o agente gelificante (ágar), constituintes da dieta artificial utilizada para o desenvolvimento larval de *A. fraterculus* – sem perda de qualidade dos insetos produzidos.

Esta publicação vincula-se aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável nº 2, “Fome Zero e Agricultura Sustentável”, e 12, “Consumo e Produção Responsáveis”, pois visa subsidiar a produção de insetos para programas de manejo de pragas, como o controle biológico de insetos-praga e o uso da técnica do inseto estéril. As cadeias beneficiadas, nesse caso, é a fruticultura praticada por pequenos e por grandes produtores, nos sistemas agroecológicos ou convencionais e em todos os biomas brasileiros.

Material e Métodos

Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos da criação de manutenção, segundo metodologia e ingredientes utilizados por Salles (2002), adaptado por Nunes et al. (2013) (Tabela 1). A criação de manutenção e os experimentos foram realizados em sala climatizada sob temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Desenvolvimento larval de *A. fraterculus* em dietas artificiais com diferentes fontes proteicas

Para avaliar o efeito do ingrediente proteico na biologia de *A. fraterculus*, foi testada uma modificação na dieta artificial para larvas apresentada por Salles (1992), correspondendo à substituição do gérmen de trigo (uma das fontes de proteína da dieta) – utilizado como padrão na dieta – por outros ingredientes.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. O fator de tratamento foi a fonte de proteína utilizada em substituição ao gérmen de trigo, com três níveis [farinha de arroz integral, farinha de milho, mistura de farinha de trigo integral + farelo de soja], além do gérmen de trigo cru, considerado como testemunha, por ser a fonte de proteína padrão usada na dieta artificial do laboratório. Optou-se por trabalhar com esses ingredientes após *screening* inicial, realizado no Laboratório de Entomologia. A quantidade de cada ingrediente foi calculada em função do balanceamento nutricional entre proteínas e carboidratos (valores apresentados nos rótulos das embalagens), tendo como base a dieta de gérmen de trigo, a fim de manter quantidades aproximadas dos macronutrientes nas quatro dietas, bem como a mesma quantidade total dos demais ingredientes sólidos (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes utilizados para o preparo da dieta artificial visando o desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2019

| Ingredientes | Gérmen de trigo | Farinha de arroz | Farinha de milho | Farinha de trigo + farinha de soja |
|--|-----------------|------------------|------------------|------------------------------------|
| Levedura de cerveja (g) | 90 | 130 | 130 | 100 |
| Açúcar refinado (g) | 90 | 30 | 40 | 40 |
| Ágar (g) | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 |
| Benzoato de sódio (g) | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Nipagin™ (metilparahidroxibenzoato)(mL)* | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Ácido clorídrico 37% | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Água destilada (mL) | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| Gérmen de trigo (g) | 90 | | | |
| Farinha de arroz | | 110 | | |
| Farinha de milho | | | 100 | |
| Farinha de trigo + farelo de soja | | | | 100 + 30 |

* A menção a quaisquer marcas, justifica-se apenas para fins comparativos e/ou ilustrativos, não havendo, por parte da Embrapa e autores desta publicação, qualquer tipo de conotação comercial ou de recomendação de uso.

Para o preparo da dieta artificial, foram colocados em liquidificador os ingredientes sólidos, tais como o açúcar refinado, levedura de cerveja Brewcell™ (Biorigin), fonte proteica correspondente a cada tratamento e benzoato de sódio (Synth®) (1,5 g), com 1.000 mL de água destilada, 12 mL de Nipagin™ (metilparahidroxibenzoato) (Synth®), diluído a 10% em álcool etílico, e 10 mL de ácido clorídrico concentrado a 37% (Vetec®). Em seguida, os ingredientes foram homogeneizados por 30 segundos. O ágar bacteriológico (Vetec®) (4,5 g) foi dissolvido em 200 mL de água destilada e levado ao fogo, sendo homogeneizado constantemente até levantar fervura. Então foi acrescido aos demais ingredientes no liquidificador e agitado por mais dois minutos, até a homogeneização final (Salles, 1992).

Após o preparo, a dieta foi distribuída em recipientes plásticos (400 mL) com tampa perfurada. Em cada recipiente, foram colocados 150 mL de dieta e, após 24 horas, foram inoculados, separadamente, 0,2 mL de uma mistura homogênea de água e ovos de *A. fraterculus* (\pm 2.340 ovos) sobre papel filtro, com 10 repetições. Os recipientes foram acondicionados em sala climatizada, observados diariamente e, no momento da formação dos primeiros pupários, as larvas de terceiro instar foram separadas da dieta por lavagem em água corrente, utilizando-se uma peneira para retenção das mesmas. Essas foram transferidas para recipientes contendo vermiculita fina. Após 24 horas, 100 pupários de cada repetição foram separados e pesados em balança analítica de precisão (Shimadzu do Brasil, modelo AUY 220). Em seguida, os pupários foram acondicionados em novos recipientes, a fim de se avaliar o percentual de emergência, permitindo, assim, calcular a viabilidade de pupa (%) e a razão sexual (rs), descritas por Silveira Neto et al. (1976).

Também foram avaliadas as durações dos períodos ovo-larva, pupa e ovo-adulto. Para se determinar os parâmetros biológicos correspondentes aos adultos, oito repetições (gaiolas) com 50 casais de cada tratamento foram montadas. Esses casais foram colocados em gaiolas de plástico transparente (26,2 cm x 17,7 cm x 14,7 cm), possuindo um painel de tecido *voile* vermelho em uma das partes, coberto com fina camada de silicone para estimular a oviposição. Os insetos adultos foram alimentados com dieta sólida composta por açúcar, gérmen de trigo e levedura (Bionys YEMF e YENS), na proporção de 3:1:1, respectivamente, disponibilizada em recipientes de plástico (80 mL). Também foi fornecida água por capilaridade em recipientes semelhantes, por meio de algodão hidrófilo.

Diariamente, foram realizadas coletas de ovos, por um período de 10 dias, contados a partir do período de pré-oviposição. Após as coletas, os ovos foram dispostos em papel filtro, com auxílio de uma pipeta de Pasteur e registrados digitalmente por meio de fotografias, para posterior contagem no programa *Paint*, visando determinar a fecundidade e, conseqüentemente, o período de pré-oviposição. Para a avaliação da viabilidade de ovos, foi retirada uma amostra de 50 ovos da quinta postura de cada gaiola. Esses ovos foram

colocados sobre papel filtro previamente disposto sobre pano esponja vegetal umedecido, no interior de placas de acrílico, as quais foram mantidas em câmara climatizada até a eclosão, quando foi registrado o número de larvas. Nesse mesmo período, e seguindo até o sétimo dia de oviposição, tanto os ovos provenientes das gaiolas do experimento quanto das gaiolas da criação de manutenção foram coletados e inoculados nas dietas artificiais correspondentes, para dar sequência às próximas gerações (criação de manutenção).

Desenvolvimento larval de *A. fraterculus* em dietas artificiais com diferentes agentes gelificantes

Foram utilizadas quatro dietas para se avaliar o efeito da substituição do agente gelificante (ágar) por outros gelificantes, de menor custo, que mantivessem o desenvolvimento de *A. fraterculus* (Tabela 2), sendo: Dieta 1 (D1): Dieta de Ongaratto (2017); Dieta 2 (D2): com carragenina; Dieta 3 (D3): com goma xantana; e, Dieta 4 (D4): com sementes de chia.

Para o preparo das dietas, utilizou-se a metodologia de Nunes et al. (2013), alterando-se somente o procedimento envolvendo o gelificante. Para o preparo de 1,5 L de dieta artificial, foram colocados em liquidificador os seguintes ingredientes: açúcar refinado, levedura de cerveja liofilizada Brewcell™ (Biorigin, Lençóis Paulista, SP), farinha de milho média, benzoato de sódio, 1.000 mL de água destilada e Nipagin™ (parahidroxibenzoato) (Tabela 2). Na D1, o ágar foi dissolvido em 200 mL de água destilada e levado ao micro-ondas por aproximadamente 2,5 minutos, até levantar fervura, quando foi acrescentado aos demais ingredientes no liquidificador e agitado por mais um minuto, até a homogeneização final e distribuição em potes. Esses recipientes plásticos (250 mL) possuíam tampa perfurada coberta por *voile* para permitir aeração. Em cada frasco foram depositados 50 mL de dieta, sendo que cada tratamento teve um total de 10 repetições.

Para o D2, a carragenina foi levada ao fogo com 200 mL de água destilada até levantar fervura, sendo então misturada aos demais ingredientes no liquidificador. Nas Dietas 3 e 4, todos os ingredientes juntos foram homogeneizados no liquidificador por 3 minutos ou até alterarem sua consistência para mais endurecida, sem a necessidade de fogo.

Tabela 2. Ingredientes e suas respectivas quantidades, utilizados para o preparo das dietas artificiais para o desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*, contendo diferentes agentes gelificantes. Composição para o preparo de 1,5 litros de dieta artificial. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2019.

| Ingredientes | Dietas | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|----------------|
| | Dieta de Ongaratto (2017) | Dieta com carragenina | Dieta com goma xantana | Dieta com chia |
| Levedura de cerveja liofilizada (g) | 130 | 130 | 130 | 130 |
| Açúcar refinado (g) | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Farinha de milho (g) | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Benzoato de sódio (g) | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Nipagin (g) | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,2 |
| Água destilada (mL) | 1.200 | 1.200 | 1.200 | 1.200 |
| Ágar (g) | 4,5 | - | - | - |
| Caragenina (g) | - | 8 | - | - |
| Goma xantana (g) | - | - | 10 | - |
| Chia (g) | - | - | - | 100 |

Passadas 24 horas do preparo das dietas, foram inoculados em cada pote, separadamente, 0,21 mL da mistura de ovos com água destilada sobre papel filtro (aproximadamente 1.040 ovos, com viabilidade de 75%). Após a inoculação, as dietas foram transferidas para sala climatizada. Após 10 dias da inoculação, diariamente foram realizadas avaliações para se contabilizar a pupação. Com a formação das primeiras

pupas, procedeu-se à remoção da dieta artificial, por meio de lavagem dos insetos (pré-pupas e pupas) em água corrente e com auxílio de uma peneira (malha de 2 mm). Logo após a remoção, o volume de larvas foi mensurado, com o auxílio de uma proveta, e em seguida os insetos foram transferidos para frascos de 250 mL contendo farinha de milho como substrato para pupação. Após 5 dias, os pupários foram contabilizados e de cada repetição foram selecionados 50 para mensuração de massa. Esses pupários foram utilizados também para avaliação da emergência de adultos.

O restante das pupas permaneceu armazenado em uma gaiola e, após a emergência, 20 casais adultos foram coletados para a avaliação do período de pré-oviposição, fecundidade e viabilidade dos ovos. Esses insetos receberam, em placas, água por capilaridade (com algodão hidrófilo) e dieta sólida composta por açúcar, gérmen de trigo e levedura (Bionys YEMF e YENS), na proporção de 3:1:1 (Nunes, 2013).

O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado, com quatro tratamentos e dez repetições. Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: número de larvas, número e peso de pupários e fecundidade. Os dados foram analisados com o programa Past, versão 3.26, e testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, e após submetidos ao teste *One Way ANOVA*, com nível de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

Desenvolvimento larval de *A. fraterculus* em diferentes dietas artificiais

Para o período de desenvolvimento ovo-larva, a maior duração foi obtida quando utilizada a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja e, em comparação à testemunha, apenas a dieta à base de farinha de trigo + farelo de soja diferiu significativamente (Tabela 3). De acordo com Chapman, Simpson e Douglas (2013), a fase larval representa uma fase de crescimento em que 90% da massa corporal adulta é acumulada. Isso permite que a duração do desenvolvimento seja adaptada para otimizar o progresso ao longo de um padrão nutricional (Simpson; Raubenheimer, 2007) para alcançar um fenótipo adulto estável. Isso sugere que a proteína seja nutriente-chave durante a fase larval (Nash; Chapman, 2014), uma vez que a duração do desenvolvimento aumentou em larvas criadas em dietas com farinha de trigo + farelo de soja, o que remete a uma fonte de nutriente que possivelmente apresenta difícil assimilação pelo inseto na fase imatura. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores que manipularam proteínas para otimizar o processo de criação em massa de diferentes espécies de Tephritidae (Oviedo et al., 2011; Nash; Chapman, 2014).

Para o estágio de pupa de *A. fraterculus*, não foram observadas diferenças significativas, sendo que os valores ficaram próximos de 15 dias (Tabela 3). Para o período ovo-adulto, foi observada maior duração quando as larvas de *A. fraterculus* se desenvolveram em dietas contendo a combinação farinha de trigo + farelo de soja, e em relação à testemunha também houve diferença significativa (Tabela 3). Nunes et al. (2013), trabalhando com a dieta larval contendo gérmen de trigo, obtiveram valores inferiores (23,8 dias) para a duração do período ovo-adulto. Os mesmos autores, ao utilizar extrato de soja para dieta de adultos, reportaram valores (24,3 dias) também inferiores para esse parâmetro.

Fêmeas de *A. fraterculus*, mantidas durante a fase larval em dieta artificial com farinha de milho e com farinha de arroz, apresentaram maior período de pré-oviposição, diferindo significativamente da dieta com farinha de trigo + farelo de soja, sendo que essa dieta diferiu significativamente em relação à testemunha (Tabela 2).

A dieta contendo farelo de soja como um dos componentes, neste trabalho, apresentou valores médios para o período de pré-oviposição (intervalo de 7,37 dias), próximos aos relatados por González (1971), com adultos alimentados com dieta composta por extrato de soja, em que o período de pré-oviposição foi de 8,0 dias. Flores, Hernández e Toledo (2012), trabalhando com a dieta de *A. ludens* contendo farinha de milho para *A. fraterculus* em 16 gerações, reportaram que as fêmeas começaram a oviposição aos 8 dias de idade.

Ao se analisar os dados sobre fecundidade, observou-se que essa variável não diferiu entre as dietas avaliadas, mas, quando comparadas com a testemunha, as três dietas alternativas diferiram significativamente

(Tabela 3). Braga Sobrinho et al. (2009), trabalhando com dietas para adultos, obtiveram praticamente o dobro do valor de fecundidade para a dieta contendo proteína hidrolisada de milho, em comparação à presença de soja na dieta. Nunes et al. (2013), utilizando gérmen de trigo na dieta de adultos, reportaram valores três vezes maiores para fecundidade diária e total, em relação à utilização de extrato de soja. Cabe ressaltar que, no âmbito deste estudo, a fecundidade foi avaliada por 10 dias, e não a vida toda, como avaliado pelos demais autores citados.

Tabela 3. Duração (dias) dos períodos ovo-larva, pupa, ovo-adulto e pré-oviposição, e fecundidade de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína após seis gerações de criação na respectiva fonte proteica. Temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa do ar de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 12 horas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2019.

| Fonte de proteína | Ovo-larva (dias) | Pupa (dias) | Ovo-adulto (dias) | Pré-oviposição (dias) | Fecundidade |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Gérmen de trigo (testemunha) | 14,70 \pm 0,213 | 15,30 \pm 0,335 | 30,00 \pm 0,298 | 8,12 \pm 0,125 | 835,99 \pm 47,00 |
| Farinha de arroz | 14,40 \pm 0,163 b ^{ns} | 15,10 \pm 0,378 a ^{ns} | 29,50 \pm 0,341 b ^{ns} | 8,37 \pm 0,183 a ^{ns} | 628,54 \pm 39,65 a [*] |
| Farinha de milho | 14,30 \pm 0,260 b ^{ns} | 15,50 \pm 0,224 a ^{ns} | 29,80 \pm 0,200 b ^{ns} | 8,50 \pm 0,189 a ^{ns} | 533,41 \pm 32,25 a [*] |
| Farinha de trigo + farelo de soja | 16,80 \pm 0,467 a [*] | 15,60 \pm 0,400 a ^{ns} | 32,40 \pm 0,427 a [*] | 7,37 \pm 0,183 b [*] | 624,47 \pm 29,33 a [*] |

Médias (\pm erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan ($p \leq 0,05$).

Para peso de pupários, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, sendo o maior peso observado na dieta com farinha de milho (Tabela 4). Silva Neto, Dias e Joachim-Bravo (2012) verificaram que fêmeas de *C. capitata* apresentaram preferência para cópula com machos maiores, indicando que o tamanho pode refletir na competitividade reprodutiva do adulto. A faixa de valores obtidos para peso de pupários oriundos de dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja corroboram os valores encontrados por Dias (2015) e Nunes et al. (2013) (15,7 mg e 15,3 mg, respectivamente), utilizando dieta artificial com gérmen de trigo para desenvolvimento larval de *A. fraterculus*. Já González (1971) relatou valores na faixa de 18,0 mg, próximos aos encontrados neste trabalho para as dietas com farinha de arroz e farinha de milho. Flores, Hernández e Toledo (2012), trabalhando com dieta adaptada de *A. ludens* e *A. obliqua*, contendo proporções diferentes de farinha de milho para *A. fraterculus*, obtiveram valores de peso de pupa de 16,7 mg e 14,2 mg, respectivamente, valores esses inferiores aos obtidos para a dieta contendo farinha de milho, neste trabalho (Tabela 4).

Para razão sexual, não ocorreu diferença significativa entre as dietas testadas, mostrando que as dietas não influenciaram a sobrevivência de machos e fêmeas. Para a mesma espécie e para outras, como *C. capitata* e *A. grandis*, a razão sexual também é próxima de 0,5 (Silva et al., 2007; Nunes et al., 2013; Bolzan et al., 2015), demonstrando que a proporção sexual desse grupo de insetos é de uma fêmea para um macho, aproximadamente.

Tabela 4. Peso de pupários (mg) e razão sexual de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína após seis gerações. Temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa do ar de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 12 horas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS., 2019.

| Fonte de proteína | Peso de pupários (mg) | Razão sexual |
|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------|
| Gérmen de trigo (testemunha) | 19,30 \pm 0,17 | 0,58 \pm 0,02 |
| Farinha de arroz | 18,64 \pm 0,06 b [*] | 0,52 \pm 0,03 |
| Farinha de milho | 19,14 \pm 0,23 a ^{ns} | 0,58 \pm 0,02 |
| Farinha de trigo + farelo de soja | 15,45 \pm 0,16 c [*] | 0,64 \pm 0,01 |

Médias (\pm erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan ($p \leq 0,05$). *, ns Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (gérmen de trigo) pelo teste de Dunnett ($P \leq 0,05$).

Para viabilidade de ovo (taxa de eclosão), na comparação entre as fontes de proteína alternativas, não foram observadas diferenças significativas. Entretanto, quando as dietas constituídas pelas fontes de proteína alternativa foram comparadas com o gérmen de trigo (testemunha), apenas a dieta de arroz diferiu significativamente da testemunha. (Tabela 5).

Para viabilidade de pupa (percentual de emergência), a dieta constituída por farinha de trigo + farelo de soja diferiu significativamente daquelas com farinha de milho e farinha de arroz. Comparando-se com a testemunha, não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de proteína, quanto à emergência dos insetos.

O fato de todos os tratamentos, inclusive o controle, apresentarem valores baixos de emergência descarta a possibilidade de relacionar-se à fonte de proteína. Porém, os valores obtidos para viabilidade da fase de pupa, neste trabalho, são, em algumas situações, próximos aos reportados por Vera et al. (2007) e Walder et al. (2008), em que os autores obtiveram taxa de emergência de insetos acima de 80%.

Tabela 5. Viabilidade (%) das fases de ovo e pupa de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína após seis gerações. Temperatura de 25±1 °C, umidade relativa do ar de 70±20% e fotofase de 12 horas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2019.

| Fonte de proteína | Fase de ovo | Fase de pupa |
|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Gérmen de trigo (testemunha) | 51,25±4,31 | 77,20±2,41 |
| Farinha de arroz | 37,25±2,03 a* | 65,60±5,74 b ^{ns} |
| Farinha de milho | 48,25±5,31 a ^{ns} | 73,30±2,44 b ^{ns} |
| Farinha de trigo + farelo de soja | 43,25±3,14 a ^{ns} | 87,90±2,16 a ^{ns} |

Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan (p≤0,05)

Na avaliação geral, em relação à duração dos períodos de desenvolvimento de *A. fraterculus*, a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja aumentou a duração dos períodos ovo-larva, pupa e ovo-adulto, fator esse indesejado para criação massal de insetos. Também apresentou influência na redução da média geral de fecundidade. Apenas o período de pré-oviposição não foi afetado, sendo que essa dieta apresentou os menores valores médios para esse parâmetro. A dieta contendo farinha de arroz apresentou adequação em vários parâmetros, porém pouco se sabe sobre a utilização desse ingrediente na formulação de dietas larvais para desenvolvimento de espécies de mosca-das-frutas, pelo fato de se tratar de um produto de fabricação local.

Os resultados obtidos neste trabalho apresentaram grandes variações para alguns parâmetros de qualidade. De acordo com Souza, Matioli e Souza (1988), outras espécies de moscas-das-frutas como a mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata*, levou pelo menos 10 gerações consecutivas para o processo de adaptação e completa recolonização em dieta larval diferente. Da mesma maneira, a mosca-das-frutas sul-americana *A. fraterculus* apresentou capacidade de desenvolvimento em uma gama diferente de alimentos, com ingredientes variados. A espécie apresentou plasticidade fenotípica nos diferentes ambientes de desenvolvimento, ao longo das gerações. Porém, a qualidade da proteína e a possível diferenciação na assimilação dos aminoácidos na fase larval refletiram, em muitas situações, em alterações nos parâmetros de desenvolvimento tanto imaturo quanto dos adultos gerados. Esses problemas podem ser minimizados ao longo das gerações de desenvolvimento ou, ainda, as técnicas de criação e as metodologias podem ser ajustadas para melhoria na qualidade dos insetos produzidos.

Desenvolvimento larval de *A. fraterculus* em dietas artificiais com diferentes agentes gelificantes

O volume de larvas produzidas diferiu significativamente entre as dietas testadas (Tabela 6). As dietas contendo sementes de chia (Dieta 4) e goma xantana (dieta 3) apresentaram o maior volume de larvas produzidas, diferindo significativamente da dieta que utilizou ágar (testemunha; Dieta 1) e da dieta que utilizou carragenina (Dieta 2). O número de pupas obtido foi maior nas Dietas 3 e 1, diferindo das demais (Tabela 6). Embora a Dieta 4 tenha propiciado maior volume de larvas, o número de pupas obtido foi menor em relação aos demais tratamentos. Essa diferença está relacionada ao peso de pupários, que foi maior na dieta contendo chia. Provavelmente, além de propiciar consistência, a dieta à base de chia também foi uma fonte de nutrientes, propiciando a obtenção de insetos maiores (Tabela 6). Em relação ao número de insetos emergidos, não foi observado diferença significativa, variando de 32,9 a 38,4 moscas nas dietas contendo chia e ágar como agente gelificante, respectivamente (Tabela 6).

De todos os agentes gelificantes testados, a carragenina propiciou os menores resultados em relação a volume de larvas, número de pupas e peso de pupários. Entretanto, o uso de carragenina em dietas larvais já foi utilizado por Maset (2018), que utilizou 6 g para 1 kg de dieta larval para *C. capitata* e *A. fraterculus*. No caso do presente experimento, foi utilizado para o desenvolvimento de *A. fraterculus* 8 g de carragenina para produção de 1,5 L de dieta artificial, conforme Tabela 3. Provavelmente seja necessário aumentar a quantidade de carragenina e, assim, conferir maior consistência na dieta, para que as larvas possam se alimentar adequadamente.

Tabela 6. Valores médios (\pm erro padrão) dos parâmetros biológicos de *Anastrepha fraterculus* criadas na fase larval em dieta artificial com ingredientes alternativos ao uso do ágar (Dieta 1), como carragenina (Dieta 2), goma xantana (Dieta 3) e sementes de chia (Dieta 4). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2019.

| Parâmetros biológicos | Dieta 1 | Dieta 2 | Dieta 3 | Dieta 4 | F | P |
|----------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------|-----------|
| Volume de larvas | 11,6 \pm 0,91bc | 10 \pm 0,42c | 13 \pm 0,80ab | 15,3 \pm 0,61a | 9,96 | 0,00006 |
| Número de pupas | 417,3 \pm 35,4ab | 345,4 \pm 8,56b | 486,3 \pm 27,98a | 340,7 \pm 17,96b | 7,79 | 0,00039 |
| Peso de pupários (g) | 0,0092 \pm 0,0002bc | 0,0088 \pm 0,0002c | 0,0104 \pm 0,000b | 0,0129 \pm 0,000a | 26,59 | 3,03 E-09 |
| Número de moscas emergidas | | | | | | |
| Machos | 11 \pm 1,44 | 15,4 \pm 1,38 | 14,5 \pm 1,39 | 14 \pm 1,14 | 2,005 | 0,1307 |
| Fêmeas | 27,4 \pm 2,04a | 22,9 \pm 1,40ab | 23,8 \pm 2,24ab | 18,9 \pm 1,13b | 3,912 | 0,01623 |
| Total | 38,4 \pm 2,55 | 38,3 \pm 2,08 | 38,3 \pm 3,12 | 32,9 \pm 1,58 | 1,27 | 0,2974 |

Letras minúsculas iguais na linha não diferem estatisticamente em nível de 95% de confiança.

Deve-se mencionar também que gelificantes como a carragenina e o ágar necessitam de aquecimento, tornando o processo de preparo de dieta mais demorado. Mastrangelo et al. (2014), que testaram dietas artificiais para mosca-da-bicheira (*Cochliomyia hominivorax*), apontaram que dietas artificiais com gelificantes utilizáveis imediatamente, sem aquecimento, reduzem o tempo de preparo em cerca de 88%, além de serem mais econômicas.

Por outro lado, a goma xantana possui modo de preparo mais simples, sendo que tende a adquirir valores idênticos de viscosidade se aquecida, tornando prescindível esse processo. A goma xantana apresenta alta viscosidade, elevada estabilidade térmica e iônica numa ampla faixa de pH, sendo facilmente biodegradável e não apresentando nenhuma toxicidade (Parfitt, 1999). É importante ressaltar que seu uso é amplo em produtos já comercializados, o que possibilita o incremento em dietas artificiais para o desenvolvimento de insetos, já que esse espessante possui baixo custo e é facilmente encontrado no mercado (Klaic, 2010).

Além de propiciar a obtenção de maior quantidade de insetos e com peso maior de pupários, a goma xantana e a mucilagem de chia para consumo humano – conforme estudos – apresentaram valores de firmeza, coesão, elasticidade e gomosidade semelhantes, o que indicou a potencialidade da adição dessas sementes em produtos alimentícios (Lopes, 2017), indicando tais produtos também para serem utilizados em dietas artificiais para criação de insetos.

Portanto, conforme apresentado na Tabela 6, os dados indicam viabilidade da substituição de ágar por outros gelificantes comumente recomendados, assim como pelas sementes de chia, que precisam ser trituradas para que seus nutrientes sejam aproveitados e também para que haja liberação do óleo presente na semente, e de outros componentes, que conferem maior consistência à dieta.

Conclusões

As dietas contendo farinha de arroz ou farinha de milho propiciam o desenvolvimento de *A. fraterculus*, quando comparadas à dieta com germen de trigo.

Dentre os agentes gelificantes, os três ingredientes alternativos testados (carragenina, goma xantana e sementes de chia) podem substituir o ágar, sendo que a dieta contendo sementes de chia triturada também aumenta a qualidade nutricional da dieta, propiciando a obtenção de insetos mais pesados.

Referências

- BOLZAN, A.; NAVA, D. E.; GARCIA, F. R. M.; VALGAS, R. A.; SMANIOTTO, G. Biology of *Anastrepha grandis* (Diptera: Tephritidae) in different cucurbits. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 1034-1039, 2015.
- BRAGA SOBRINHO, R.; CACERES, C.; ISLAM, A.; WORNOPYORN, V.; ENKERLIM, W. Improving mass rearing technology for southamerican fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Caatinga**, v.19, n.3, p.310-316, 2006.
- BRAGA SOBRINHO, R.; GUIMARÃES, J. A.; MESQUITA, A. L. M.; ARAÚJO, K. L. B. **Desenvolvimento de dietas para a criação massal de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 33).
- CHANG, C. L. Effect of amino acids on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 3, p. 529-535, 2004.
- CRESONI-PEREIRA, C.; ZUCOLOTO, F. S. Moscas-das-frutas (Diptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 733-768.
- DIAS, N. P. **Biologia de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e sua relação com o pH em dieta artificial**. 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul.
- FINNEY, G. L. A fortifield carrot medium for mass culture of the Oriental fruit fly and certain other Tephritidae. **Journal of Economic Entomology**, v. 49, n. 1, p. 134-136, 1956.
- FLORES, H. S.; HERNÁNDEZ, E.; TOLEDO, J. Desarrollo de un sistema de cría artificial para *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v. 28, n. 2, p. 321-340, 2012.
- GONZÁLEZ, J. B. Crianza masal de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann). **Revista Peruana de Entomología**, v. 14, n. 1, p. 71-76, 1971.
- HSIAO, T. H. Feeding behavior. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. London: Pergamon Press, 1985. p. 471-512.
- JALDO, H. E.; GRAMAJO, M. C.; WILLINK, E. Mass rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): a preliminary strategy. **Florida Entomologist**, v. 84, n. 4, p. 716-718, 2001.
- KLAIC, P. M. A. **Desenvolvimento de método de digestão ácida para determinação de sais em xantana e potencialização reológica de xantana de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* por troca iônica**, 2010. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- LOPES, A. C. **Mucilagem de chia e sua utilização no processamento de biscoito salgado isento de glúten**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.
- MASET, B. A. **Eficiência de dietas larvais para a produção de *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. 2019. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.
- MASTRANGELO, T.; BEZERRA, F.; FERNANDES, T. Alternative larval diets for mass rearing of screwworm, *Cochliomyia hominivorax*. **Revista Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 672-677, 2014.
- MORELLI, R. M. **Produção em grande escala do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) em larvas hospedeiras de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) linhagem mutante *tsl-Viena 8***. 2013. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, USP, Piracicaba, São Paulo.
- NASH, W. J.; CHAPMAN, T. Effect of dietary components on larval life history characteristics in the Medfly (*Ceratitis capitata*: Diptera, Tephritidae). **PloS One**, v. 9, n. 1, p. e86029, 2014.
- NUNES, A. M.; COSTA, K. Z.; FAGGIONI, K. M.; COSTA, M. L. Z.; GONÇALVES, R. S.; WALDER, J. M. M.; GARCIA, M. S.; NAVA, D. E. Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 10, p. 1309-1314, 2013.
- OVIDO, A.; NESTEL, D.; PAPADOPOULOS, N. T.; RUIZ, M. J.; PRIETO, S. C.; WILLINK, E.; VERA, M. T. Management of protein intake in the fruit fly *Anastrepha fraterculus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 12, p. 1622-1630, 2011.
- OVIDO, A.; NESTEL, D.; PAPADOPOULOS, N. T.; RUIZ, M. J.; PRIETO, S. C.; WILLINK, E.; VERA, M. T. Management of protein intake in the fruit fly *Anastrepha fraterculus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 12, p. 1622-1630, 2011.
- PARFITT, K. Stabilising and suspending agents. In: MARTINDALE: The complete drug reference. 32. ed. London: Pharmaceutical Press, 1999. 1470 p.
- SALLES, L. A. B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 21, p. 479-486, 1992.
- SCHMITZ, F. Z. **Substituição do Amido de Milho por Goma Xantana na Preparação de Cremes de Pateleiro**: Impacto nas Componentes de Aroma e de Textura. 2014. 144 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) - Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2014.
- SILVA NETO, A. M.; DIAS, V. S.; JOACHIM-BRAVO, I. S. Comportamento reprodutivo de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera Tephritidae): efeito do tamanho dos machos sobre o seu sucesso de cópula. **EntomoBrasilis**, v. 5, n. 3, p. 190-197, 2012.
- SILVA, F. F.; MEIRELLES, R. N.; DAL SOGLIO, F. K.; REDAELLI, L. R. Comparação de métodos de controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) na produção orgânica de citros. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 14, n. 1, p. 36-52, 2007.

- SIMPSON, S. J.; RAUBENHEIMER, D. Caloric restriction and aging revisited: the need for a geometric analysis of the nutritional bases of aging. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 62, n. 7, p. 707-713, 2007.
- SINGH, P. Insect Diets: Historical Development, Recent Advances, and Future Prospects. In: KING, E. G.; LEPPLA, N. C. (Ed.). **Advances and Challenges in Insect Rearing. Agricultural Research Service (Southern Region)**. New Orleans: U.S. Department of Agriculture, 1984. p. 32-44.
- SOUZA, H. M. L.; MATIOLI, S. R.; SOUZA, W. N. The adaptation process of *Ceratitis capitata* to the laboratory analysis of life-history traits. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 49, n. 3, p. 195-201, 1988.
- VERA, M. T.; ABRAHAM, S.; OVIEDO, A.; WILLINK, E. Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) maintained under artificial rearing. **Florida Entomologist**, v. 90, n. 1, p. 53-57, 2007.
- WALDER, J. M. M.; COSTA, M. L. Z.; ALCARDE, L. D.; COSTA, K. Z.; CANALE, R. A.; MASTRANGELO, T. A.; LOPES, L. A.; KAMYIA, A. C. Desenvolvimento de sistema de criação massal para *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22., 2008, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia, 2008.

